Aus der Medizinischen Klinik der Universität

Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. E. Wollheim

DIE GLUCURONIDBILDUNG NACH PERORALER SALICYLAMIDAPPLIKATION IN BEZIEHUNG ZUM LEBERSTOFFWECHSEL.

Inaugural - Dissertation

verfasst und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität, Würzburg

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Robert Link

aus Schippach

Würzburg 1954

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549822_0040

Aus der Medizinischen Klinik der Universität

Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. E. Wollheim

DIE GLUCURONIDBILDUNG NACH PERORALER SALICYLAMIDAPPLIKATION IN BEZIEHUNG ZUM LEBERSTOFFWECHSEL.

Inaugural - Dissertation

verfasst und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität, Würzburg

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Robert Link

aus Schippach

Würzburg 1954

Referent: Professor Dr. med. E. Wollheim

Tag der mündl. Prüfung:

18. Okt. 1954

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg

DIE GLUCURONIDBILDUNG NACH PERORALER SALICYLAMIDAPPLIKATION IN BEZIEHUNG ZUM LEBERSTOFFWECHSEL.

Nach den geltenden Anschauungen der physiologischen Chemie steht die Bildung der Glucuronsäure im Organismus in enger Beziehung zum Leberstoffwechsel. Man gründet diese Ansicht zunächst einmal darauf, dass die durchschnittliche Ausscheidung an Glucuronsäure im Harn Leberkranker gegenüber Normalpersonen vermindert sei. Darauf wies bereits 1930 S a u e r hin. A b e l s, R e k e r s, B i n k l e y, P a c k und R h o a d s haben bei Patienten mit einem Carcinom des Gastrointestinaltraktes zur Orientierung über die Leberfunktion neben mehreren anderen Tests u. a. auch die Glucuronsäureausscheidung studiert und kamen zu dem Ergebnis, dass diese gegenüber Normalpersonen vermindert sei und daher auf eine Leberfunktionsstörung schliessen lasse. Rechnet man den Mittelwert der von obigen Autoren angegebenen Einzelbefunde aus, so erhält man für 23 Normalpersonen einen Wert von 466 mg/ 24 Std., während dieser für die Carcinomträger (40 Patienten) bei 378 mg/ 24 Std. liegt. In jüngster Zeit gibt B r o x mit einer modifizierten Methode von Q u i c k an, dass die schweren Parenchymschädigungen der Leber (Hepatitis und Lebercirrhosen) mit einer extrem niedrigen Glucuronsäureausscheidung, meist weniger als 100 mg/ 24 Std., einhergehen.

Die von B r o x angegebene mittlere Glucuronsäureausscheidung bei Normalpersonen beträgt 250 - 450 mg/ Tag mit einer Schwankungsbreite von 180 - 600 mg. Nach H o l l m a n n und W i l l e schwanken die in der Literatur bekanntgegebenen Mittelwerte der normalen Glucuronsäureausscheidung ausserordentlich stark und

zwar zwischen 164 und 1o5o mg/ Tag und Person. Diese Schwankung beruht wohl zum Teil auf einer unterschiedlichen Versuchsmethodik. Die von H o l l m a n n und W i l l e selbst angegebenen Zahlen für nur 3 Personen zeigen Mittelwerte von 47o bzw. 475 mg mit extremer Streuung der Einzelwerte von 398 - 612 mg/ Tag. Mit gleicher Versuchsanordnung (Naphthoresorcinmethode nach M o z o l o w s k i) ergab sich bei 51 Glucuronsäurebestimmungen an 1o Normalpersonen eine Schwankungsbreite von 18o - 58o mg mit einem Durchschnittswert von 41o mg/ Tag (R u p p e r t, K a p p). Auch T o l l e n s sowie W a g r e i c h mit Mitarbeiter fanden ähnliche Ausscheidungswerte.

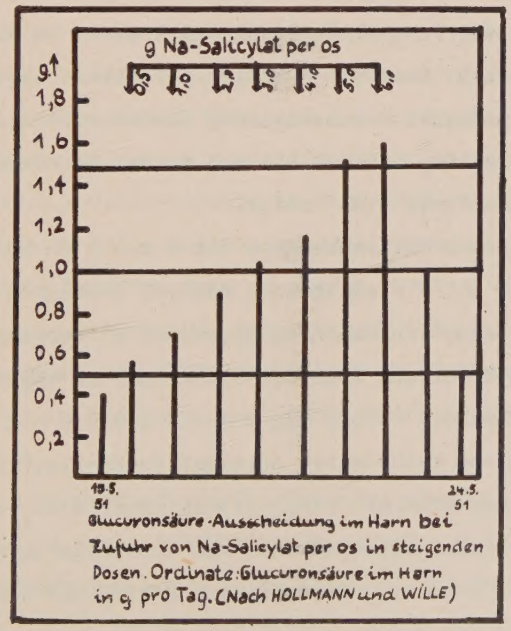
Nach all diesen Angaben muss man sehr vorsichtig sein und darf wohl erst dann die Glucuronsäureausscheidung eines Patienten als pathologisch vermindert betrachten, wenn sie unter 15o mg/ Tag liegt (bestimmt mit der Naphthoresorcinmethode).

Eine 2. Möglichkeit, die Glucuronidbildung in Beziehung zum Leberstoffwechsel zu studieren, beruht darauf, dass eine grosse Anzahl von chemischen Verbindungen, besonders solche mit phenolischen Hydroxylgruppen, mit Glucuronsäure äther- oder esterartig gekuppelt vom Organismus ausgeschieden werden, so z. B. Chloral, Chloroform, Phenol, Kresol, Thymol, Gujacol, Hydrochinon, Resorcin, Brenzkatechin, Orcin, Terpentinöl, Kampfer, Menthol, Naphthol, Acetanitid, Salicylsäure u. a.. Auch die bei der Fäulnis im Darmkanal (Phenole, Indol) entstehenden aromatischen Körper werden zum grossen Teil an Glucuronsäure gekuppelt, desgleichen Steroidhormone wie z. B. Pregnandiol, Oestrogene und Corticosteroide u. a. körpereigene Stoffwechselprodukte.

Man ist daher in der Lage, durch Verabreichung solcher chemischer Substanzen, die einerseits nicht bzw. wenig toxisch sind

und andererseits zu einem hohen Prozentsatz an Glucuronsäure gekuppelt werden, die Glucuronsäurebildung stark anzuregen und somit auch in Abhängigkeit vom Leberstoffwechsel zu studieren. Man kann sich dabei gut vorstellen, dass eine geschädigte Leber, die zwar die normalerweise vorkommenden Stoffwechselprodukte noch ausreichend durch Glucuronidbildung entgiften kann, dann in dieser Funktion zusammenbricht, wenn durch grosse Mengen eines Glucuronsäurelockers extrem hohe Belastung in der Entgiftungsfunktion gestellt wird.

Am geeignetsten hierzu erwies sich bis jetzt wohl Na- Salicylat bezw. die Acetylsalicylsäure (S a l t). In nachstehender Tabelle 1 von H o l l m a n n und W i l l e ist die starke Zunahme der Glucuronsäureausscheidung bei steigender Dosis von Na-Salicylat aufgezeichnet:



Glucuronsäure-Ausscheidung im Harn bei Zufuhr von Na-Salicylat per os in steigenden Dosen. Ordinate: Glucuronsäure im Harn in g pro Tag. (Nach HOLLMANN und WILLE)

Der Vorteil des Na- Salicylats liegt in einer schnellen Resorption und wieder raschen Ausscheidung, sodass man in einer 24-Stundenharnmenge den Hauptteil der gekuppelten Salicylverbindungen erhält. Der Nachteil dieses Testes liegt darin, dass Na- Salicylat nicht in grossen Dosen gegeben werden kann, da es zu starke Nebenerscheinungen verursacht.

Im Rahmen der Untersuchungen über die Entgiftungsfunktion der Leber wurde an der Leipziger Klinik neben der Oxydierbarkeit zugeführten Methioninschwefels zu Sulfatschwefel auch die Glucuronidbildung nach Menthol als Reizmittel näher untersucht. Dies wurde in Form des sogenannten "Mentholprobetrunkes" durchgeführt, in dem 1o g Mentholspiritus 1o% ig in 1oo ccm Milch mit 2og Bienenhonig verabreicht wurden (B r o x). Menthol reizt anscheinend die Magenschleimhaut zu sehr und wird in Gestalt des Probetrunkes durch Milch und Honig gemildert. Damit dürfte sich aber auch eine Grenze in der Mentholdosierung und dadurch in der Glucuronidvermehrung ergeben. Nach B r o x wird durch diese Gabe von 1 g Menthol die Glucuronsäureausscheidung durchschnittlich um o,2 g pro 24 Std. vermehrt, maximal bis o,5 g. Bei Leberkranken liegen die betreffenden Werte viel tiefer.

Es ist zu diesen Untersuchungen von B r o x zu bemerken, dass dabei die von Q u i c k angegebene Methode verwendet wurde, bei welcher die im Harn vorkommenden gepaarten Glucuronsäuren mit Äther extrahiert werden, dann die Glucuronsäure abgespalten und seine Reduktionskraft nach H a g e d o r n und J e n s e n bestimmt wird. Diese Methode hat bestimmt Nachteile, indem nämlich nicht alle Glucuronide mit Äther extrahierbar sind, wie z. B. S a l t für Aspirin angegeben hat, und ausserdem auch ausser den Glucuroniden noch andere unspezifische Stoffe mit reducierender

Wirkung miterfasst werden.

Ausgehend von den Untersuchungen von B r a y und Mitarbeiter, wonach bei Kaninchen nach der Applikation von Salicylsäureamid (Salicylamid) im Harn nur o - 1 % freies Salicylamid, aber 4 - 6 % Esterglucuronid und neben 13 - 16 % Schwefelsäureester, 67 - 76 % Ätherglucuronide festzustellen sind, widmete sich R u p p e r t der Frage, wie weit sich dieses Salicylamid für die Rolle des Glucuronidbildners beim Menschen eignen kann. Der Vorteil dieser Substanz liegt in der ganz ausgezeichneten Verträglichkeit, seiner schnellen Resorption und Ausscheidung und der hohen Glucuronidbildungsrate. Während H o l l m a n n und W i l l e für jedes g aufgenommene Aspirin oder Na- Salicylat eine Mehrausscheidung an Glucuronsäure von 187 mg bzw. 2o5 mg feststellten, liegt die Koppelungsrate bei Salicylamid viel höher und zwar werden pro g zugeführten Salicylamid innerhalb 24 Stunden 5oo - 7oo mg Glucuronsäure mehr im Harn ausgeschieden. Nach einer Verabreichung von 16 g Salicylamid konnte z.B. eine Steigerung der Glucuronsäureausscheidung im 24 - Stundenharn auf 7,8 g erzielt werden (R u p p e r t), während bei einer Patientin mit Polyarthritis nach 12 g Salicylamid 13,2 g Glucuronsäure im Harn erschienen. Man kann natürlich damit noch keine exakte Feststellung der Koppelungsrate an Glucuronsäure treffen; denn zu diesem Zweck muss man statt der zugeführten Salicylamidmengen die ausgeschiedenen Salicylverbindungen in Beziehung zur Mehrausscheidung an Glucuronsäure setzen. Darauf wird bei Schilderung der eigenen Versuche noch näher eingegangen werden.

Zum näheren Studium des Einflusses der Leberfunktion auf die Glucuronidbildung nach zugeführtem Salicylamid dienten ausser den erwähnten Befunden von B r a y und Mitarbeiter, wonach beim Kaninchen nur o - 1 % freies Salicylamid, alles andere in gebunde-

ner Form ausgeschieden wird, noch folgende Ergebnisse als Grundlage: D r e b i n g e r sowie H o l t z und D r e b i n g e r fanden nach Salicylamidgabe beim Menschen im Harn weder freies Salicylamid noch freie Salicylsäure, sondern ausschliesslich Salicylamidverbindungen. Nach den papierchromatographischen Untersuchungen von B e c h e r, M i k s c h, R a m b a c h e r und S c h ä f e r liessen sich im menschlichen Harn nach Einnahme von 3 g Salicylamid weder freies Salicylamid und Gentisamid, noch freie Salicylsäure und Gentisinsäure nachweisen. Hingegen wurden identifiziert: Salicylamidglucuronid, Gentisinamidglucuronid und Salicylamidschwefelsäureester.

Wenn also nach diesen Angaben normalerweise nur gebundenes Salicylamid bzw. Gentisamid im Harn ausgeschieden wird und andererseits der Leber die Hauptrolle zukommen soll, zur Entgiftung phenolischer Verbindungen diese mit Glucuronsäure bzw. Schwefelsäure zu koppeln, so könnte man erwarten, dass bei stark gestörter Leberfunktion im Harn eine gewisse Menge von freien Salicylderivaten auftritt. Es wurde daher erhofft, allein mit dem qualitativen Nachweis freier Salicylkörper im Harn einen Anhalt für das Ausmass einer gestörten Entgiftungsfunktion der Leber zu haben.

1. Nachweis freier Salicylverbindungen im Harn.

Um das Vorliegen freier Salicylsäure nach Gabe von Na- Salicylat oder Salicylamid im Harn festzustellen, säuert man etwa 10 ccm Harn in der Kälte mit verdünnter Salzsäure an, sättigt die Lösung mit Kochsalz und extrahiert 2 - 3 mal durch ausgiebiges Schütteln mit einem Gemisch von 3 Gew.- Teilen Petroläther und 2 Gew.- Teilen Chloroform. Die vereinigten farblosen Extrakte werden mit

ca. 5 ccm Wasser 2 - 3 mal ausgewaschen, bis die Salzsäure entfernt ist. Dann werden die Petroläther- Chloroformextrakte mit einigen ccm 1 % Ferriammonsulfatlösung versetzt und gut durchgeschüttelt. Beim Vorliegen freier Salicylverbindungen färbt sich die wässrige Phase nun blau bis blauviolett.

Nach diesem Arbeitsgang wurden zunächst einmal die Harne von lo Normalpersonen, denen 3 g Salicylamid verabreicht worden waren, untersucht. Es blieb in allen diesen Fällen die Salicylprobe mit Ferriammonsulfat im 24- Stundenharn negativ, wodurch das Fehlen freier Salicylverbindungen bewiesen war. Hydrolysierte man dagegen die Harne nach den Angaben von K r a n z zunächst durch 4-stündiges Kochen mit HCl am Rückfluss und führte dann die Extraktion der Salicylkörper mit Petroläther- Chloroform durch, so konnte man damit alle Salicylsäure, die aus den gebundenen Salicylverbindungen entstanden war, erfassen und quantitativ durch Messen der Violettfarbe am Stufenphotometer bestimmen (Eichkurve mit Na- Salicylat und Umrechnen auf Salicylsäure).

Tab. 1

Ausscheidung von freien und gebundenen Salicylverbindungen bei 3 Normalpersonen unter Salicylamidmedikation.

Tage 1.)	Zugeführtes Salicylamid	Ungebundene Salicylverbb. im Harn	Nach Hydrolyse extrahierbare Salicylverbb. im Harn (berechnet als Salicylsäure)
14.3.	6g	negativ	1,8g
15.3	6g	"	6,2g
16.3.	6g	"	4,1g
17.3.	6g	"	3,6g
18.3.	-	"	1,3g
19.3.	-	"	o,1g
	Ges. Salicylamidmenge 24g		Ges. Ausscheidung an Salicylverbb. 17,1g = 71 %

Tage 2.)	Zugeführtes Salicylamid	Ungebundene Salicylverbb. im Harn	Nach Hydrolyse extrahierbare Aalicylverbb. im Harn (berechnet als Salicylsäure)
24.3.	6g	negativ	1,5g
25.3.	6g	"	5,9g
26.3.	6g	"	4,0g
27.3.	6g	"	5,5g
28.3.	6g	"	4,8g
29.3.	6g	"	4,4g
30.3.	-	"	0,8g
31.3.	-	"	0,3g
	Ges. Salicylamidmenge 36g		Ges. Ausscheidung an Salicylverbb. 27,2g = 76 %

Tage 3.)	Zugeführtes Salicylamid	Ungebundene Salicylverbb. im Harn	Nach Hydrolyse extrahierbare Salicylverbb. im Harn (berechnet als Salicylsäure)
23.3.	6g	negativ	1,2g
24.3.	6g	"	4,8g
25.3.	6g	"	5,1g
26.3.	6g	"	3,4g
27.3.	6g	"	3,9g
28.3.	6g	"	2,5g
29.3.	6g	"	3,7g
30.3.	-	"	0,8g
	Ges. Salicylamidmenge 42 g		Ges. Ausscheidung an Salicylverbb. 25,2 g = 60 %

Aus diesen an 10 Personen durchgeführten Versuchen geht hervor, dass man bei Normalpersonen mit einer Salicylausscheidung von mindestens 50 - 80 % der verabreichten Salicylamidmengen rechnen kann, wie es auch schon von anderen Autoren angegeben wurde, die zum Teil sogar noch höhere Werte erhielten.

Andererseits zeigte sich, dass die Salicylverbindungen dabei nur in gebundener Form ausgeschieden wurden.

Wenn man derartige Untersuchungen nun auf Leberkranke überträgt, dann ergibt sich ein ähnliches Bild zumindest bezüglich

des Fehlens von direkt extrahierbaren, also nicht an Glucuronsäure oder Schwefelsäure gebundenen Salicylverbindungen. Dabei war die Resorption von Salicylamid im Grossen und Ganzen normal, sodass meist 5o - 7o % der verabreichten Menge im Harn ausgeschieden wurde. In einigen Fällen von schwerer Hepatitis sank jedoch die Salicylamidausscheidung auf 2o - 35 % der verabreichten Menge ab; auch hier fanden sich keine freien Salicylverbindungen im Harn.

2. Da es also misslang, lediglich durch den Nachweis freier Salicylverbindungen im Harn Leberkranker eine Störung der Entgiftungsfunktion nach Salicylamidverabreichung festzustellen, sollte nun durch quantitative Analysen Einblick gewonnen werden, wie viel % der ausgeschiedenen Salicylverbindungen bei Normalpersonenund Leberkranken tatsächlich an Glucuronsäure gekuppelt sind, um hier eventuell Unterschiede zu erkennen.

Prinzip der Versuche: Nach Feststellung der mittleren Glucuronsäureausscheidung während einer 3 - tägigen Vorperiode werden 3 g Salicylamid (x) am Vormittag auf 3 Portionen verteilt innerhalb von 3 Stunden per oral verabreicht. In dem nun gesammelten 24-Stundenharn werden die gesamten Salicylverbindungen nach Hydrolyse mit HCl als Salicylsäure bestimmt und nach Abzug der in der Vorperiode ausgeschiedenen Glucuronsäure die Mehrausscheidung an dieser Verbindung ermittelt.

Methodik.

a.) Salicylbestimmung im Harn (nach K r a n z)

lo ccm der 24 - Stundenharnmenge werden mit 15 ccm konz. HCl 3 Stunden am Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen wird mit 4o % NaOH

(x) Wir danken der Fa. Pharmazell (Raubling) für freundliche Überlassung grösserer Versuchsmengen.

alkalisch gemacht, mit verdünnter H_2SO_4 gerade bis zur schwach sauren Reaktion versetzt und mit NaCl gesättigt. Das Ganze wird im Scheidetrichter 7- mal mit einem Gemisch von 3 Gew.- Teilen Petroläther und 2 Gew.- Teilen Chloroform ausgeschüttelt. Die Extrakte wäscht man 1 - 2 mal mit ganz wenig H_2o säurefrei und schüttelt sie dann mit 5 - lo ccm 1 % iger Ferriammonsulfatlösung durch. Die wässrige Phase wird dabei violett und man lässt sie in einem Messkolben ab. Es wird das Ausschütteln mit Ferriammonsulfat wiederholt, bis keine Violettfärbung mehr auftritt. Die vereinigten wässrigen Farblösungen werden je nach Farbintensität auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und am Stufo bei Filter S 57 in 1 - oder 2 - ccm Küvetten gegen H_2O gemessen. Eichkurve mit Na- Salicylat und Umrechnen auf Salicylsäure.

b.) Glucuronsäurebestimmung: (nach M o z o l o w s k i , modifiziert).

Bei Normalharnen werden 1,o ccm einer Verdünnung 1 : lo, bei 24-Stundenharnen nach 3 g Salicylamid o,5 ccm Harn einer Verdünnung 1 : 2o in ein Kjeldalkölbchen von 5o ccm Fassungsvermögen pipettiert und mit Aqua dest. auf 5,o ccm ergänzt. Nach Zugabe von 5 ccm HCl (Spez. Gew. 1,1 g) pro analysi aus einer Bürette und 5 ccm o,2 % iger Naphthoresorcinlösung (nur 2 - 3 im Eisschrank halten) wird der Inhalt durchgemischt und das Kölbchen genau 3o min. in siedendes Wasser getaucht. Als Leerwert wird immer ein Kölbchen mitgeführt, in dem statt Harn + Aqua dest. nur 5 ccm Aqua dest. einpipettiert werden. Über die Kölbchen stülpt man kleine Bechergläschen. Man kühlt nun alle Kölchen sofort in Eiswasser ab und pipettiert lo ccm Äther hinzu. Nach kurzem, aber kräftigem Durchschütteln lässt man die Kölbchen bis zur Messung

in Eiswasser stehen und giesst dann die blau- violette Ätherschicht in o,5 ccm Küvetten, schliesst diese mit Deckgläschen ab und misst innerhalb 2 - 3 Minuten, damit sich der Küvetteninhalt nicht zu stark erwärmt, bei Filter S 57. Bei jeder Serie läuft ein Standartwert mit, der 4o - 8o γ Glucuronsäure enthält.

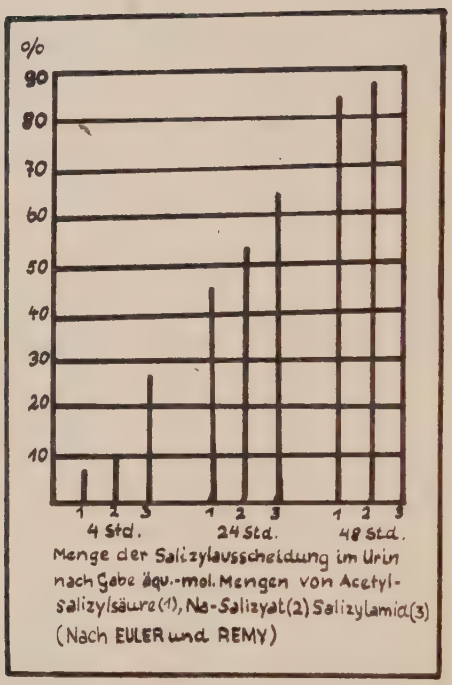
Ergebnisse des Salicylamidtestes.

	Glucuronsäure in Vorperiode. Mittelwert pro Tag.	Zugeführtes Salicylamid	Ausgeschiedene Salicylverbb.	Zuwachs an Glucuronsäure	Bindung der Salicylverbb. an Glucuronsäure in %
a.) Normalpersonen:					
1.) Ru. F.	o,53og	3g	2,5og	1,73g	49,5%
	o,48og	3g	2,1og	1,44g	49,2%
	o,48og	3g	2,23g	2,71g	84,7%
	o,5oog	5g	3,41g	4,3og	89,5%
	o,53og	5g	4,oog	4,oog	71,o%
	o,51og	5g	3,84g	3,o8g	57,o%
	o,51og	5g	4,71g	3,55g	54,o%
	o,51og	5g	3,3og	2,43g	52,o%
	o,51og	5g	3,51g	3,16g	63,5%
	o,51og	5g	4,o5g	3,19g	56,o%
	o,51og	5g	3,52g	3,36g	67,8%
2.) Ru. K	o,465g	3g	2,12g	1,93g	64,8%
3.) Ru. M.	o,5o7g	3g	2,75g	2,o6g	53,5%
4.) Li.	o,463g	3g	2,o8g	1,oog	34,2%
	o,463g	3g	2,24g	1,7og	54,o%
	o,463g	3g	2,34g	1,42g	43,5%
	o,463g	3g	2,36g	1,56g	47,o%
	o,463g	3g	2,52g	1,22g	34,2%
	o,463g	3g	2,52g	1,1og	31,o%
14 Tage Pause					
	o,494g	3g	2,24g	2,1og	66,5%
	o,5oog	3g	2,33g	2,19g	66,7%
	o,47og	3g	1,63g	1,66g	72,2%
b.) Lebererkrankungen:					
1.) Schrö. (Hepatitis)	o,4oog	3g	2,39g	2,3og	6o,5%

	Glucuronsäure in Vorperiode. Mittelwert pro Tag	Zugeführtes Salicylamid	Ausgeschiedene Salicylverbb.	Zuwachs an Glucuronsäure	Bindung der Salicylverbb. an Glucuronsäure in %
2.) Krau. (Hepatitis)	0,412g	3g	2,21g	2,08g	67,0%
3.) Krä. (Hepatitis	0,370g	3g	2,20g	0,22g	7,1%
			Im Abklingen		
	0,270g	3g	2,70g	1,56g	39,8%
	0,270g	3g	2,55g	1,63g	46,5%
	0,270g	3g	2,65g	1,48g	39,8%
	0,270g	3g	2,42g	1,27g	37,4%
4.) Kot (Hepatitis)	0,500g	3g	2,40g	0,22g	6,5%
5.) Gehr. (Hepatitis)	0,720g	3g	2,50g	2,11g	60,0%
6.) Dra. (Verschlussikterus bei Malignom)	0,450g	3g	2,30g	0,11g	3,5%
7.) Nee. (Ikterus bei Cholelithiasis)	0,450g	3g	1,62g	1,93g	84,5%
8.) Jä. (Lebercirrhose)	0,550g	3g	2,48g	2,93g	84,2%
9.) Seel. (Lebercirrhose)	0,567g	3g	2,52g	2,67g	75,0%
c.) Carcinome:					
1.) Hein. (Mamma- Ca)	0,342g	3g	2,08g	1,32g	45,1%
2.) Schu. (Magen- Ca)	0,410g	3g	2,26g	2,36g	74,0%
3.) Seub. (Magen- Ca)	0,252g	3g	2,02g	2,81g	98,5%
4.) Ka. (Magen- Ca)	0,469g	3g	2,12g	3,06g	87,0%

	Glucuronsäure in Vorperiode. Mittelwert pro Tag	Zugeführtes Salicylamid	Ausgeschiedene Salicylverbb.	Zuwachs an Glucuronsäure	Bindung der Salicylverbb. an Glucuronsäure in %
5.) Sto. (Bronchial- Ca)	o,36og	3g	1,14g	o,86g	54,o%
d.) Verschiedene Erkrankungen:					
1.) Höf. (Virilismus)	o,438g	3g	1,66g	1,89g	81,o%
2.) Bah. (Virilismus)	o,236g	3g	2,24g	2,oog	63,7%
3.) Herb. (Cushing Tbc)	o,543g	3g	2,o2g	1,96g	69,o%
4.) Pfrie. (Polyarthritis)	o,27og	12g	7,68g	9,83g	9o,5%
	o,27og	12g	7,28g	7,o5g	68,5%
	o,27og	12g	9,3og	12,9og	99,o%
	o,27og	12g	8,82g	12,4og	99,o%
	o,27og	12g	8,oog	1o,4og	92,o%
	o,27og	12g	6,48g	8,7og	94,5%
	o,27og	12g	8,82g	11,2og	9o,o%
Schüttelfrost	o,27og	12g	8,oog	11,oog	97,o%
	o,27og	4g	2,79g	3,51g	9o,o%
	o,27og	6g	3,9og	4,7og	86,o%
5.) Schw. Har. (Polyarthritis)	o,8oog	9g	8,oog	11,2og	99,o%

Dieser von R u p p e r t entwickelte Salicylamidtest zur Prüfung der Glucuronidbildung als Entgiftungsfunktion des Körpers wurde weiter vereinfacht. Nach den von E u l e r und R e m y 195o angegebenen Befunden wird Salicylamid viel schneller ausgeschieden als Acetylsalicylsäure und Na- Salicylat und zwar innerhalb der ersten 4 Stunden nach Verabreichung mehr als doppelt so viel. (Siehe Abb. 2).



Menge der Salizylausscheidung im Urin nach Gabe äqu.-mol. Mengen von Acetylsalizylsäure(1), Na-Salizyat(2) Salizylamid(3) (Nach EULER und REMY)

Es war daher zu erhoffen, dass man in der ersten 4- Stundenharnportion schon sehr hohe Salicyl- und damit auch Glucuronsäurewerte fassen konnte, während die davon abzuziehende Normalausscheidung an Glucuronsäure in der Vorperiode bei Harnmengen von 5o - 2oo ccm noch relativ niedrig ist. Übrigens ist diese Versuchsanordnung auch praktisch leichter und sicherer durchzuführen.

Versuchsanordnung: Nach völliger Entleerung der Blase am Morgen (7 - 8 Uhr) werden 2oo - 3oo ccm Tee zum Frühstück getrunken und die nächsten 4 Stunden genau Harn gesammelt. Es wird darin die Glucuronsäure bestimmt (o,5 ccm einer Harnverdünnung 1 : lo). Nach 2 - 3 Tagen Vorperiode werden zum Frühstück 3 g

Salicylamid mit dem Tee genommen und in der 4- Stundenharnmenge Salicylsäure und Glucuronsäure nach den angegebenen Verfahren bestimmt. Es ergaben sich mit dieser Versuchsanordnung gleiche Werte für die Koppelungsrate der ausgeschiedenen Salicylverbindungen an Glucuronsäure wie mit dem über 24 Stunden Salicylamidtest.

Ergebnisse des verkürzten Salicylamidtestes.

	Glucuronsäure in Vorperiode. Mittelwert pro Tag	Zugeführtes Salicylamid	Ausgeschiedene Salicylverbb.	Zuwachs an Glucuronsäure	Bindung der Salicylverbb. an Glucuronsäure in %
a.) Normalpersonen:					
1.) Ru. F.	o,o84g	3g	1,79g	1,65g	61,o%
	o,o72g	3g	1,64g	1,75g	75,4%
	o,116g	3g	1,93g	1,86g	68,5%
2.) Hör.	o,o6og	3g	1,37g	1,46g	76,o%
3.) Fi.	o,216g	3g	2,1og	1,7og	57,5%
4.) Li.	o,o71g	3g	1,96g	2,21g	8o,2%
	o,o71g	3g	1,55g	1,62g	75,o%
	o,o71g	3g	1,7og	1,76g	78,5%
	+ 25o g Traubenzucker per os				
5.) Rö.	o,o71g	3g	1,77g	2,o6g	83,o%
	o,o71g	3g	o,82g	o,65g	56,o%
	+ 25o g Traubenzucker per os				
	o,o71g	3g	o,621g	o,86g	98,o%
6.) Fö.	o,o45g	3g	o,4o5g	o,57g	93,o%
7.) Le.	o,o85g	3g	1,98g	1,78g	64,o%
	o,o85g	3g	1,92g	2,39g	89,o%
	o,o85g	3g	1,18g	1,36g	82,o%
	+ 25o g Traubenzucker per os				
8.) Bich	o,18og	3g	o,87g	1,2og	93,o%

	Glucuronsäure in Vorperiode. Mittelwert pro Tag	Zugeführtes Salicylamid	Ausgeschiedene Salicylverbb.	Zuwachs an Glucuronsäure	Bindung der Salicylverbb. an Glucuronsäure in %
b.) Lebererkrankungen:					
1.) Ke. (Hepatitis)	o,11og	3g	o,86g	1.o9g	9o,o%
2.) B. Hepatitis)	o,113g	3g	1,27g	1,35g	75,8%
3.) Gehr. (Hepatitis)	o,1o5g	3g	1,31g	1,o5g	57,o%
4.) Schrö. (Hepatitis)	o,o95g	3g	o,96g	o,98g	72,6%
5.) Fal. (Hepatitis)	o,o82g	3g	1,25g	o,57g	32,4%
6.) Ed. (Cholangitis)	o,1oog	3g	o,96g	1,o2g	75,5%
7.) Schl. (Leberzirrhose)	o,o76g	3g	1,38g	o,62g	33,o%
8.) Kun. (Lebercirrhose)	o,124g	3g	1,o7g	o,81g	71,6%
9.) Bau. Lebercirrhose)	o,o97g	3g	o,84g	o,56g	64,3%
1o.) Ro. (Lebercirrhose)	o,o91g	3g	o,95g	o,68g	51,1%

Besprechung der Ergebnisse:

Die Koppelungsrate der nach Verabreichung von Salicylamid im Harn an Glucuronsäure gebundenen Salicylverbindungen schwankt bei Normalpersonen in sehr weitem Bereich und zwar maximal von

3o - 99 %. Auf Grund der grossen Streuung und der zu geringen Anzahl von untersuchten Personen soll von der Angabe eines Mittelwertes Abstand genommen werden. Es ist noch zu erwähnen, dass bei längerer Beobachtung selbst bei Einzelpersonen sehr starke Schwankungen vorkommen können wie z. B. bei Ru. F. von 49 - 89% und bei Li. von 31 - 72%, sodass keine statistischen Aussagen gemacht werden können. Ein Einfluss der Ernährung auf die Bindungsrate an Glucuronsäure war nicht zu erkennen. B r o x hat gezeigt, dass durch Belastung von Normalpersonen mit tgl. 1oog Dextropur per os keine Vermehrung der Glucuronsäureausscheidung eintritt; wir können dies bestätigen und dahin ergänzen, dass auch nach Belastung mit 3 g Salicylamid die gleichzeitige Gabe von 25og Traubenzucker per os (innerhalb 1 Std. genommen) keine Änderung der Glucuronidbildung bedingt. Dies ist insofern bemerkenswert, als S ü d h o f nach i. v. Zufuhr von Traubenzucker bei Kaninchen mit Mentholbelastung eine wesentliche Erhöhung der ausgeschiedenen Glucuronide fand.

In der Absicht, bei Belastung des Organismus mit einem so starken Glucuronidbildner wie Salicylamid eventuell auch kleinere Schädigungen der Leberfunktion zu erfahren, wurden zunächst einige Carcinome untersucht. Es liess sich aber die von A b e l s und Mitarbeiter vertretene Ansicht, dass bei Carcinomen des Gastrointestinaltraktes als Ausdruck bestehender Leberschädigungen die Glucuronsäureausscheidung vermindert sei, nicht bestätigen und der Salicylamidtest ergab z. B. bei 3 Carcinomen des Magens mit einer Koppelungsrate von 74 - 98% Werte des Normalbereiches. Selbst bei ausgeprägten Erkrankungsbildern der Leber war die Glucuronidbildung meist erstaunlich gut erhalten. Bei lo Hepatitisfällen (1 davon mit Cholangitis und 1 mit Chole-

lithiasis), die kurz nach Einlieferung in das Krankenhaus auf der Höhe ihrer Erkrankung untersucht wurden, trat im Salicylamidtest keine Senkung der Koppelungsrate an Glucuronsäure auf. Selbst 1 Fall mit beginnendem Coma hepaticum konnte das zugeführte Salicylamid noch gut an Glucuronsäure kuppeln. Lediglich in 3 Fällen war eine starke Glucuronidsenkung festzustellen. Der eine Fall (Krä.) mit Hepatitis hatte einen Wert von nur 7,1 %, beim Abklingen der Hepatitis stieg die Koppelungsrate an Glucuronsäure bei mehrmaliger Bestimmung auf 37 - 46 % an; die 2 anderen Fälle waren eine Hepatitis mit 5,5 % bzw. ein Malignom mit Verschluss der Gallenwege mit 3,5 %. Auffallend war auch, dass die 6 untersuchten Lebercirrhosen, die ein ausgeprägtes Bild mit Dysproteinämien und Ascites zeigten, im Salicylamidtest eine Glucuronidbildung von 33 - 84 % ergaben. Gerade für die Lebercirrhosen hat aber B r o x mit dem "Mentholtrunk" die niedrigsten Glucuronsäureausscheidungswerte gefunden.

Will man die hier mitgeteilten Befunde beim Salicylamidtest mit den Ergebnissen von B r o x in Beziehung bringen, so drängt sich zur Erklärung der Differenzen ein methodisches Problem auf. Der 1. Unterschied liegt darin, dass wir nicht nur den Zuwachs an Glucuronsäure beim Salicylamidtest analysierten, sondern diesen auch zu den tatsächlich im Harn ausgeschiedenen Salicylverbindungen in Beziehung setzten und daraus die Bindungsrate ermittelten. Wenn man nur die Glucuronsäure bestimmt und erniedrigte Werte im Harn findet, dann kann es ja auch sein, dass die Resorption des Menthols im Magen- Darmkanal bei bestimmten Erkrankungen der Leber vermindert wird und damit dann auch gar keine grösseren Mengen an Mentholglucuronid im Harn erscheinen können. Dass Menthol kein ideales Testmittel zu sein scheint,

geht wohl auch daraus hervor, dass es in Milch und mit Honig verabreicht werden muss, da es sonst zu starke Reizerscheinungen im Magen macht. Der andere Erklärungsweg für die Differenzen der Untersuchungsergebnisse liegt wohl darin, dass B r o x die Glucuronide des Harnes erst mit Äther extrahiert und in diesem Extrakt durch Bestimmung der reducierenden Kraft nach H a g e d o r n und J e n s e n den Glucuronssäureanteil ermittelt. Abgesehen von dem eventuellen Mitreagieren anderer "unspezifischer" ätherlöslicher Substanzen bei der Reduktionsmethode muss man daran denken, dass die Extrahierbarkeit von Glucuroniden mit Äther nicht ohne Weiteres gewährleistet ist. S a l t zeigte 1935, dass bei Verabreichung von Aspirin (Acetylsalicylsäure) die im Harn erscheinenden gepaarten Verbindungen nicht ätherlöslich sind. Die Ätherextrakte gaben keine positive Naphthoresorcinprobe. Wenn für Mentholglucuronid eine Ätherlöslichkeit besteht, so könnte es sein, dass selbst bei ungestörter Resorption Lebererkrankungen zu einer Veränderung des Menthols führen und die andersartigen Stoffe entweder gar nicht an Glucuronsäure gebunden werden oder die neuen Glucuronide nicht mehr ätherlöslich sind und damit eine Verminderung der Glucuronsäure im Harn Vortäuschen. Es wäre dann die Mentholbelastung nach der Extraktionsmethode in gewissem Sinne zwar auch ein Lebertest, aber sie hat nicht mehr die Fähigkeit zur Kuppelung gewisser Substanzen an Glucuronsäure als Entgiftungsfunktion der Leber zur Grundlage.

Nach unseren Ergebnissen beim Salicylamidtest scheint eine erstaunlich gute Glucuronidbildungsfähigkeit selbst bei schwer geschädigten Leberfunktionen erhalten zu bleiben.

Z u s a m m e n f a s s u n g.

Zur Untersuchung der Glucuronidbildung im menschlichen Organismus wurde ein Salicylamidtest ausgearbeitet. Zunächst wurde nach Verabreichung von tgl. 3 - 5 g Salicylamid die Ausscheidung von freien und von gebundenen Salicylverbindungen bei lo Normalpersonen untersucht. In keinem Fall traten nach Ansäuern direkt extrahierbare Salicylverbindungen auf. Die Ausscheidung an Salicylverbindungen betrug 5o - 8o % des verabreichten Salicylamids. Auch bei Leberkranken fanden sich nach Salicylamidapplikation keine ungebundenen Salicylverbindungen im Harn, was auf eine gute " Entgiftungsfunktion" selbst der geschädigten Leber gegenüber Salicylamid schliessen lässt. Bei der gleichzeitigen quantitativen Untersuchung des Harnes auf seinen Gehalt an Salicylverbindung und Glucuronsäure liessen sich keine Unterschiede in der Koppelungsrate der ausgeschiedenen Salicylverbindung an Glucuronsäure bei Normalpersonen und Leberkranken sowie Ca-Patienten erkennen. Lediglich bei 3 Ikteruskranken war die Koppelungsrate an Glucuronsäure unter den Normalbereich gesunken, nämlich auf 3,5, 6,5 bzw. 7,1 %. Als eventuelle Erklärungsmöglichkeit für die Differenzen gegenüber den Befunden z. B. von B r o x wird der methodische Unterschied in der Glucuronsäurebestimmung erwähnt. Es ist daran zu denken, dass bei der Methode nach Q u i c k durch Störung der Resorption bzw. durch Umwandlung des Menthols derartige Glucuronide gebildet werden, die nicht mehr mit Äther extrahierbar sind, während mit der Naphthoresorcinmethode alle Glucuronsäureverbindungen erfasst werden.

Dank: Zum Schlusse meiner Arbeit danke ich Herrn Prof. Dr. med. E. W o l l h e i m für die Überlassung des Themas und für die Übernahme des Referates.

Ferner danke ich Herrn Dr. med. et Dr. rer. nat. F. R u p p e r t für die freundliche Unterstützung und Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit, wie auch den Mitarbeitern im Med.- Chem.- Hauptlaboratorium.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s.

Abels, Rekers, Pack u. Rhoads: Ann. Intern. Med. 16, 221 (1942)

Becher, Miksch, Rambacher u. Schäfer: Klin. Wschr. 3o, 913 (1952)

Bray, Ryman u. Thorge: Biochem. J. 43, 913 (1948)

Brox: Dtsch. Ztschr. f. Verd.- u. Stoffwechselkrkht. 13 99, 198 (1953)

Drebinger: Diss. Halle (195o)

Euler u. Remy: Med. Klinik 37, 1178 (195o)

Hollmann u. Wille: Ztschr. f. physiol. Chem. 29o, 95 (1952)

Holtz u. Drebinger: Schweiz. med. Wschr. 44, 1175 (195o)

Kapp: Inaug. Dissert. Univ. Würzburg(1953)

Kranz: Münch. Med. Wschr. 86, 1535 (1939)

Mozolowski: Biochem. J. 34, 823 (194o)

Ruppert: Unveröffentlicht

Salt: Biochem. J. 29, 27o5 (1935)

Sauer: Klin. Wschr. (193o)

Südhof: Verhdlg. d. Deutschen Ges. f. Inn. Med. 1952, 441

Tollens: Ztschr. f. physiol. Chem. 61, 95 (19o9)

Wagreich, Kamin u. Harrow: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 43, 468 (194o)

L e b e n s l a u f.

Am 10.12.1922 wurde ich, Robert Hermann L i n k, als Sohn des Volksschullehrers Heinrich L i n k und dessen Ehefrau Amalia geb. E r b a c h e r in Schippach bei Miltenberg a/ Main geboren. Nach 6- klassigem Volksschulbesuch trat ich im April 1935 in das Gymnasium zu Miltenberg a/ Main ein. Im Oktober 1941 wurde ich zur Luftwaffe einberufen. Nach über 3- jährigem Kriegsdienst in Norddeutschland, Holland, Belgien, Frankreich, wurde ich in Luxemburg am 25.1.45 von amerikanischen Streitkräften gefangengenommen. Meine Gefangenschaft verbrachte ich in U. S. A. Am 16.8.46 wurde ich aus der Gefangenschaft entlassen. Da ich noch keine Reifeprüfung hatte, begann ich am 15.9.46 in Münnerstadt Ufr. einen halbjährigen Vorsemesterkurs für Kriegsteilnehmer und legte dort am 1.4.47 das Abitur ab.

Anschliessend arbeitete ich bei amerikanischen Dienststellen. Das zahnärztliche Studium begann ich im Mai 1949 an der Universität Würzburg und bestand auch dort im Februar 1951 das zahnärztliche Physikum. Am 21.9.53 beendete ich mein Studium mit der Ablegung des zahnmedizinischen Staatsexamens an der Universität Würzburg. Von 1.10.53 - 1.1.54 war ich als zahnärztlicher Assistent bei Herrn Zahnarzt Dr. Schoor in Würzburg tätig. Mit der Durchführung meiner Doktorarbeit im Med.- Chem.- Hauptlaboratorium begann ich anfangs Dezember 1953. Seit 1.4.54 habe ich eine zahnärztliche Assistentenstelle bei Herrn Zahnarzt Dr. E n g e l h a r d t in Lauingen/ Donau.

Ich versichere ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und ausser der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, dass ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe. Ein mir früher zugeteiltes Thema habe ich ordnungsgemäss zurückgegeben .

Robert Link

RUDOLF DAENZ DRUCK- UND WERBETECHNIK
WÜRZBURG KOLOFFSTEINSTR. 3